

УДК 571.27

## **ПІДХОДИ ДО УДОСКОНАЛЕННЯ БІОТЕХНОЛОГІЇ ОДЕРЖАННЯ МАНОЗОЗВ'ЯЗУЮЧОГО ЛЕКТИНУ ЛЮДИНИ**

**В.І. ВОРФОЛОМЕЄВА<sup>1\*</sup>, О.М. КЛІМОВА<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> *магістрант кафедри біотехнології, біофізики та аналітичної хімії, НТУ «ХПІ»,  
Харків, УКРАЇНА*

<sup>2</sup> *професор кафедри біотехнології, біофізики та аналітичної хімії, д-р. біол. наук, НТУ  
«ХПІ», Харків, УКРАЇНА*

*\*email: vorfolomeevav@gmail.com*

Сьогодні перспективним є дослідження та одержання продуктів біотехнології, які здатні надавати імунокорегуючу дію. Серед таких продуктів виділяють сімейство лектинів, які мають великий потенціал в медицині.

Лектини – це високоспецифічні білки, які зв'язуються з вуглеводами на поверхні клітин та відіграють вирішальну роль в різних біологічних процесах таких як клітинна передача сигналів, видалення глікопротеїнів з системи кровообігу, забезпечення міжклітинних взаємодій в імунній системі, диференціювання та націлювання білків на клітинні компартменти, і навіть в захисних механізмах господаря. Дуже важливим лектином є манозозв'язувальний білок (МЗБ), що здатен взаємодіяти із залишками манози на поверхні малегнізованих клітин, мікроорганізмів і гельмінтів, тощо [1].

Манозозв'язувальний білок – є сироватковим патернрозпізнавальним рецептором вродженого імунітету людини. Зазначений гострофазовий білок є важливим у реалізації гуморальних механізмів вродженого імунітету, зокрема – нейтралізації, опсонізації та ініціації лектинового шляху активації системи комплементу. Окрім того, він сприяє запуску імунної відповіді на антигени [2].

Дефіцит МЗБ поширена в людській популяції імунодефіцитна патологія. Встановлено, що зазначену імунну дисфункцію виявляють у 5–10% населення.

У деяких випадках для ефективної корекції патологічних імунодефіцитних станів необхідне застосування екзогенного манозозв'язуючого протеїну. Сучасна замісна імунотерапія при дефіциті МЗБ передбачає застосування свіжозамороженої збагаченої МЗБ плазми крові та препаратів МЗБ: виділеного з плазми донорів або рекомбінантного. Саме тому виникла необхідність в удосконаленні вже існуючих та розробці нових технологій його одержання.

У роботі розглянуто дві різні технології одержання манозозв'язуючого білка людини. Отримання даного цільового продукту з природних джерел в значних кількостях не є можливим, оскільки його концентрація у плазмі не перевищує десятків пікограм на мілілітр. Для одержання МЗБ використовуються рекомбінантні клітини-продуценти: бактерій (*Escherichia coli*), дріжджів (*Pichia pastoris*) та еукаріот (*Chinese hamster ovary*), трансформовані відповідними векторами, які «транспортують» ген МЗБ людини в клітину-продуцент.

Дуже важливим є підбір продуцента, правильний вибір методу перенесення гену MBL2 у клітину-продуцент, підбір поживного середовища для культивування, а також визначення оптимальних умов проведення процесу. На нашу думку, найбільш перспективними продуцентами є клітини вищих еукаріот, зокрема клітини яєчників китайського хом'ячка (CHO).

Визначено, що для синтезу манозозв'язуючого протеїну людини оптимальним варіантом є створення системи експресії на основі клітинної лінії-продуцента *CHO* (*DG44*) і плазмідного вектора pNOW1-hMBP (рис 1), що дозволить досягти високої продукції цільового білка (МЗБ) – 54,1 мг/мл.

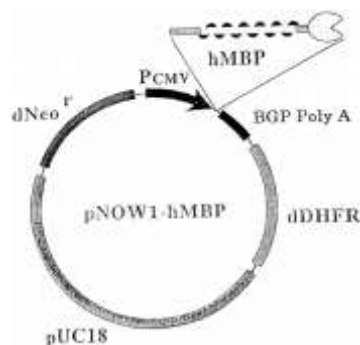


Рис. 1 – Карта плазмиди pNOW1-hMBP

Плазміда pNOW1-hMBP характеризується наступними ознаками: містить регуляторний конститутивний промотор цитомегаловірусу (CMV); фрагмент ампліфікованої раніше кДНК, що кодує послідовність манозозв'язуючого протеїна людини; термінуючу та поліаденілюючу послідовність, яка зазвичай служить для збільшення тривалості транскрипції у еукаріот (BGP PolyA); послідовність, що кодує дигідрофолат-редуктазу; послідовність pUC18, що містить ген стійкості до метатрексату; ген стійкості до неоміцину (dNeo) [3].

Застосування технології ампліфікації відповідного гену MBL2 (30 циклів ПЛР) забезпечує високий рівень синтезу манозозв'язуючого білка людини. Виділення та отримання очищеного рекомбінантного білка забезпечується процесами афінної хроматографії та гель-фільтрації. Саме двохступінчатий технологічний процес очищення забезпечує високий ступінь чистоти цільового продукту (> 98 %).

Дуже важливим і перспективним напрямком для наступних досліджень є визначення біодоступності та безпечності даного цільового продукту для організму людини.

#### **Список літератури:**

1. *Coelho L. C. Lectins, Interconnecting Proteins with Biotechnological/Pharmacological and Therapeutic Applications / L. C. Coelho, P. M. Silva, V. L. Lima et al. // Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. – 2017. – №7. – С. 1–22.*
2. *Takahashi K. Mannose-binding lectin and the balance between immune protection and complication / K. Takahashi // Expert Rev Anti Infect Ther.. – 2011. – №9. – С. 1179–1190.*
3. *Patent US 7572890B2 United States, Recombinant Human Mannan-binding proteins / Nobutaka Wakamiya. ; Fuso Pharmaceutical Industries Ltd., Osaka. – Pr. d. 30.09.2005 ; ap. 23.02.2006.*